

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 05-317075
(43)Date of publication of application : 03.12.1993

(51)Int. Cl. C12P 19/14
C07H 3/06

(21)Application number : 04-154216 (71)Applicant : NISSHIN FLOUR MILLING CO LTD
(22)Date of filing : 22.05.1992 (72)Inventor : YAMADA HIDEAKI
MINAMIZAWA YOICHI

(54) PRODUCTION OF OLIGOSACCHARIDE

(57)Abstract:

PURPOSE: To obtain an oligosaccharide extremely effective in promoting the proliferation of bifidus bacteria, especially arabinooligosaccharide, with a simple operation in high efficiency by hydrolyzing a water-insoluble fibrous substance originated from wheat flour with a cell wall digesting enzyme.
CONSTITUTION: A water-insoluble fibrous substance originated from wheat flour is hydrolyzed with a cell wall digesting enzyme to obtain an oligosaccharide. The water-insoluble fibrous substance is preferably a red cake recovered in solid state from a wheat starch waste liquid discharged in the production of starch from wheat flour, from the viewpoint of the effective utilization of red cake. The hydrolysis is carried out preferably by using 5-50 unit of the cell wall digesting enzyme in terms of xylanase based on 1g of the water-insoluble fibrous substance at 50-60° C and pH5-6. The reaction time is preferably <1hr.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 11.11.1998
[Date of sending the examiner's decision of rejection]
[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]
[Date of final disposal for application]
[Patent number]
[Date of registration]
[Number of appeal against examiner's decision of rejection]
[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]
[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998, 2000 Japan Patent Office

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平5-317075

(43)公開日 平成5年(1993)12月3日

(51)Int.Cl. ⁵	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 1 2 P 19/14		Z 7432-4B		
C 0 7 H 3/06				

審査請求 未請求 請求項の数1(全 7 頁)

(21)出願番号	特願平4-154216	(71)出願人	000228998 日清製粉株式会社 東京都中央区日本橋小塚町19番12号
(22)出願日	平成4年(1992)5月22日	(72)発明者	山田 英明 埼玉県上福岡市上ノ原2丁目2番地5 サ ンハイツ202号
		(72)発明者	南澤 陽一 東京都国分寺市本町三丁目16番3号 ユー ボ大谷301
		(74)代理人	弁理士 辻 良子

(54)【発明の名称】 オリゴ糖の製造方法

(57)【要約】

【構成】 小麦粉由来の水不溶性繊維質を細胞壁分解酵素で加水分解することを特徴とするオリゴ糖の製造方法。

【効果】 有害菌の増殖促進作用を示さず、有用菌であるビフィズス菌増殖促進作用を有するアラビノースとキシロースを多量に含むオリゴ糖、特にアラビノキシロオリゴ糖を、アルカリ抽出や加圧加熱処理などの複雑な前処理工程を経ることなく、簡単な操作で且つ高収率で製造することができ、しかもこれまで取り扱いが苦慮されており有用な用途のなかった小麦澱粉廃液中の水不溶性繊維質を有用なオリゴ糖に変えることができる。

(2)

特開平5-317075

1

【特許請求の範囲】

【請求項1】 小麦粉由来の水不溶性繊維質を細胞壁分解酵素で加水分解することを特徴とするオリゴ糖の製造方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明はオリゴ糖の製造方法に関する。詳細には、本発明は、ビフィズス菌の増殖促進に極めて有効なオリゴ糖を簡単な操作で効率よく製造する方法を提供するものである。

【0002】

【従来の技術】 近年、腸内におけるフローラ（細菌叢）が人間の健康と深く関わっていることが知られるようになり、腸内細菌に対する関心が高まっている。腸内細菌の中でも特にビフィズス菌は腸内の腐敗性細菌や病原菌の生育を抑制するなどの有益な生理効果を示すことが知られており、ビフィズス菌を増やすために色々な試みがなされている。そのうちの一つとして、グルコース、ガラクトース、フラクトースのようなヘキソースを構成糖とするフラクトオリゴ糖または大豆オリゴ糖を用いてビフィズス菌を増殖させる方法が提案されているが、これらの糖類は、ビフィズス菌や乳酸菌等の有用菌によって分解消化されてそれらを増殖させるものの、バクテロイデス・フラギリス (*Bacteroides fragilis*) 菌やバクテロイデス・フルガタス (*Bacteroides vulgatus*) 菌、大腸菌などの有害菌によっても分解消化されてそのような有害菌の増殖促進作用をも有するという欠点を有している。

【0003】 本発明者らは、有害菌を増殖させず、ビフィズス菌を選択的に増殖し得るオリゴ糖について研究を行ってきたが、オリゴ糖のうちでも、キシロースおよびアラビノースというペントース成分から主としてなるオリゴ糖が、有害菌の増殖を抑制しつつ有用なビフィズス菌を増殖させ得ることを見出して、アラビノキシロオリゴ糖を有効成分とするビフィズス菌増殖促進剤に係る発明を先に出願した(特願平3-208770号)。

【0004】 本発明者らによる上記特願平3-208770号のビフィズス菌増殖促進剤で用いるアラビノキシロオリゴ糖は、やはり本発明者らにより開発された特願平2-162788号(特開平4-53496号)および特願平3-282400号の方法で製造することができる。前者(特開平4-53496号)の方法は、小麦フスマから得られた水不溶性ヘミセルロース、水可溶性で60%エタノール不溶性ヘミセルロースまたは水可溶性で陰イオン交換体非吸着性ヘミセルロースをエンドキシラナーゼで加水分解してアラビノキシロオリゴ糖を含むオリゴ糖混合物を製造する方法であり、また後者(特願平3-282400号)の方法は、イネ科植物の皮部などのアラビノキシラン含有部位を水分の存在下に温度100～145℃、圧力1～4気圧で加圧加熱処理した後

2

に、植物細胞壁崩壊酵素を作用させてアラビノキシロオリゴ糖を製造する方法である。

【0005】 そして、上記したいずれの方法も、従来主に家畜の飼料用に用いられていた小麦フスマから、アラビノースとキシロースから主としてなる有用なオリゴ糖を円滑に製造することを可能にしたという点で技術的に大きな意味を有している。しかしながら、前者の方法は、小麦フスマからアルカリ抽出等によってヘミセルロースを抽出し、それによって得られたヘミセルロースを酵素を用いて加水分解するものであるため、小麦フスマからのヘミセルロースの抽出工程および抽出に用いたアルカリの中和処理、中和により生じた塩分の除去等が必要であり、工程的に複雑であり、高コスト化が否めなかった。また、後者の方法は、ヘミセルロースの抽出処理を行うことなく、小麦フスマ等のイネ科植物の皮部から直接アラビノキシロオリゴ糖を得ることができるとい

利点を有しているが、加圧加熱装置を必要とする。【0006】 一方、小麦澱粉の製造に際しては、小麦粉に水を加えて混練して生地を製造し、この生地を水洗してその水洗物を水不溶性グルテンと澱粉含有乳濁液とに分け、澱粉含有乳濁液から澱粉を分離回収する方法が一般に採用されている。その場合に、澱粉を分離回収した後の乳濁液は、小麦澱粉廃液として従来その大半がそのまま廃棄されており、一部のみが液状のまま、または固形状にして家畜用の飼料として利用されているだけであり、廃水処理などの点からもその取り扱いが苦慮されてきた。

【0007】 特に、小麦粉から小麦澱粉を製造する過程で発生する小麦澱粉廃液からは、小麦フスマの微細破片から主としてなる赤粕と称される褐色した水不溶性繊維質と、胚乳中に含まれる繊維質から主としてなる白粕と称される白色の水不溶性繊維質が得られ、白粕に相当する部分については、本発明者らによる先の出願(特願平2-418026号)によって、その食物繊維としての有効な利用法およびその円滑な回収方法が見いだされたが、赤粕については、これまで有効な用途がなく、その処理が問題になっていた。

【0008】

【発明の内容】 上記のような状況下で、本発明者らは、有害菌の増殖促進作用を示さず、有用菌であるビフィズス菌増殖促進作用を有するアラビノースとキシロースを含むオリゴ糖、特にアラビノキシロオリゴ糖を、アルカリ抽出や加圧加熱処理などの複雑な工程を経ることなく、簡単な操作で且つ効率よく製造する方法を開発すべく更に研究を進めてきた。それと併せて、本発明者らは小麦澱粉廃液中に含まれる水不溶性の繊維質、特に赤粕として回収される繊維質の有効利用についても研究を続けてきた。

【0009】 その結果、小麦粉から澱粉およびグルテンを製造する際に排出される小麦澱粉廃液中に含まれる水

50

(3)

特開平5-317075

3

不溶性の繊維質を用い、この繊維質に直接細胞壁分解酵素を作用させると、アルカリ抽出によるヘミセルロースの回収や加圧加熱処理を何ら行わなくても、アラビノースとキシロースに富む目的とする有用なオリゴ糖を極めて簡単に且つ効率よく製造することができることを見出して、本発明を完成した。

【0010】したがって、本発明は、小麦粉由来の水不溶性繊維質を細胞壁分解酵素で加水分解することを特徴とするオリゴ糖の製造方法である。

【0011】本発明では、小麦粉由来の水不溶性繊維質として、小麦粉に由来し且つ水不溶性である繊維質のいずれも使用でき、該水不溶性繊維質の回収方法や入手方法は特に問わない。しかし、水不溶性繊維質としては、小麦粉から澱粉を製造する際に排出される小麦澱粉廃液中に含まれる水不溶性の繊維質を使用するのが望ましい。そのうちでも、特にいわゆる赤粕と称される繊維質を使用するのが、これまで有用な用途の知られていなかった赤粕の有効利用の点、更にはそれから得られるオリゴ糖中にビフィズス菌の増殖に有用なアラビノースおよびキシロースが多く含まれる点から好ましい。

【0012】小麦澱粉廃液中の水不溶性繊維質に細胞壁分解酵素を作用させてオリゴ糖を製造するに当たっては、水不溶性繊維質を含有する小麦澱粉廃液に液状のまま直接細胞壁分解酵素を作用させてもよい。しかし、この方法よりも更に、小麦澱粉廃液から赤粕、白粕、またはそれらの混合物からなる水不溶性繊維質を固形状で回収し、回収された固形状繊維質に細胞壁分解酵素を作用させる方が、塩類や水溶性の蛋白質等が除去され、その結果純度の高いオリゴ糖が得られるので、その後のオリゴ糖の精製が容易になり特に好ましい。

【0013】小麦澱粉廃液から水不溶性繊維質を赤粕や白粕、またはそれらの混合物等の固形状として回収する方法は特に限定されない。例えば、従来公知の方法によって小麦粉から小麦澱粉を製造し、その際に副生してくる赤粕、白粕またはそれらの混合物などからなる固形状の水不溶性繊維質をそのまま使用してもよい。或いは、本発明者らによる上記した特開平2-418026号の方法に準じて次のようにして水不溶性繊維質を回収してもよく、特に、下記の方法による場合は、本発明の原料である水不溶性繊維質を簡単に且つ効率よく得ることができる。

【0014】特開平2-418026号の方法に準ずる水不溶性繊維質の回収法

小麦粉に水を加え混練して生地または乳液を製造し、該生地または乳液を水洗した後、その水洗物をグルテンと澱粉含有乳濁液とに分離し、澱粉含有乳濁液から澱粉を分離回収する。澱粉を分離した後の残留物(液)に水を加えて水希釈乳濁液とした後、それを遠心分離処理して、赤粕に相当する着色固形物と白粕に相当するものを含有する白色乳濁液の2者、または着色固形物、白色乳

4

濁液および水の3者の各々に分離し、該着色固形物および白色乳濁液の各々を乾燥して、赤粕および白粕の各々を回収し、それらを本発明における水不溶性繊維質として用いる。

【0015】そして、本発明では、小麦粉由来の水不溶性繊維質を細胞壁分解酵素で加水分解処理してオリゴ糖を生成させる。本発明で使用する細胞壁分解酵素は、キシラナーゼ活性を有するものであればいずれでもよく、例えばヤクルト社製の“セルラーゼ オノズカ”、盛進製薬社製の“ベクトリナーゼ Y-23”、三光純薬社製の“メイセラーゼ”等を挙げることができる。

【0016】細胞壁分解酵素は遊離の状態で使用しても担体に固定化して使用してもよく、また細胞壁分解酵素による加水分解処理は連続法で行ってもバッチ法で行ってもよい。細胞壁分解酵素の起源、その使用量、処理時の温度、圧力、pH、時間等の諸条件を適宜選んで処理を行う。小麦澱粉廃液から水不溶性繊維質を白粕、赤粕などの固形物として回収し、それらの固形物を使用して細胞壁分解酵素により加水分解処理を行う場合は、該水不溶性繊維質からなる固形物を水に分散または懸濁させて酵素処理を行うのがよい。

【0017】限定されるものではないが、一般に、水不溶性繊維質1gに対して、細胞壁分解酵素をキシラナーゼとして1~100units、好ましくは5~50unitsの割合で使用して、30~70℃、好ましくは50~60℃の温度で、pH4~7、好ましくはpH5~6で、4時間未満、好ましくは1時間未満で加水分解反応を行うと、目的とするオリゴ糖を収率よく且つ低コストで得ることができる。

【0018】この加水分解反応終了の一つの目安としては、水不溶性繊維質を含有する懸濁液の粘度低下がなくなくなった時点を挙げることができ、その時点で加熱などにより酵素を失活させるとよい。反応条件をより精密にコントロールしたい場合は、高速液体クロマトグラフ法(HPLC法)等で酵素反応生成物の組成を分析しながら行うとよい。

【0019】上記のようにして得られたオリゴ糖含有加水分解液を、限外濾過膜、活性炭、ゲル濾過クロマトグラフィー、イオン交換樹脂等の分離手段の1つまたは複数組合せて処理することにより、アラビノキシロオリゴ糖を主として含む目的とするオリゴ糖を分離回収することができる。

【0020】加水分解液からのオリゴ糖の分離回収法の具体例を挙げると次のとおりであるが、勿論それらに限定されない。

① オリゴ糖含有加水分解液を遠心分離した後、上澄液をマイクロフィルター(例えば孔径0.45μm)にかけ、その濾液を乾燥して主としてアラビノキシロオリゴ糖からなるオリゴ糖を回収する。

② オリゴ糖含有加水分解液を遠心分離した後、上澄液

50

(4)

特開平5-317075

5

を限外濾過膜で処理して得た流出液を乾燥して、主としてアラビノキシロオリゴ糖からなるオリゴ糖を回収する。

【0021】③ オリゴ糖含有加水分解液を遠心分離して固形物を除去した後、イオン交換樹脂に通して脱塩し、その上澄液をマイクロフィルター（孔径：0.45 μm）で処理してから活性炭カラムに通し、活性炭吸着区分と非吸着区分とに分け、次いで活性炭吸着区分を70%エタノールで溶離し、この溶離液を乾燥して、主としてアラビノキシロオリゴ糖からなるオリゴ糖を回収する。

④ オリゴ糖含有加水分解液を遠心分離した後、その上澄液をマイクロフィルター（例えば孔径0.45 μm）に通し、濾液を濃縮してゲル透過クロマトグラフィー（例えば東ソー株式会社製のToyopearl HW-40s）にかけ、溶出液を細かく分取した後、乾燥することによって単一のオリゴ糖を回収する。

【0022】本発明の方法により製造されるオリゴ糖、特に上記した①～③の回収方法により得られたオリゴ糖は、キシロースとアラビノースとが結合したアラビノキシロオリゴ糖および／またはキシロースのみが結合したキシロオリゴ糖であり、更にはキシロース、アラビノース、グルコースなどの単糖類が少量含まれる。該混合オリゴ糖中には、特にアラビノキシロオリゴ糖が多く含まれ（通常約70～80%）、該アラビノキシロオリゴ糖は、組成式 $(Xyl)_n(Ara)_m$ （式中、Xyl：キシロース、Ara：アラビノース、n：キシロースの結合数、m：アラビノースの結合数）で示した場合に、通常、 $n=2\sim10$ 、 $m=1\sim10$ のオリゴ糖からなっている。混合オリゴ糖は、混合物の形態で使用しても、または上記した④の回収法等により単一のオリゴ糖の各々に分離して回収・使用してもよい。

【0023】小麦フスマ等を使用する場合には細胞壁分解酵素を直接作用させてもオリゴ糖が得られないのに対して、小麦粉由来の水不溶性繊維質を使用する本発明において細胞壁分解酵素によってオリゴ糖が直接、簡単に得られる理論的根拠は明確ではないが、下記の理由によるものと推定される。

【0024】すなわち、本発明で使用する小麦粉廃液から回収される赤粕や白粕などの小麦粉由来の水不溶性繊維質は、主に製粉時に発生する小麦フスマの微細破片や小麦胚乳中に含まれる水不溶性の繊維質からなっている。これらの水不溶性繊維質は、製粉工程の篩分け処理を経た後の最終製品である小麦粉中に含まれているものであるため、製粉工程の最初の段階で篩分けられる粒度の大きな通常の小麦フスマ等と異なり、一般に200 μmよりも細かい粒度を有する微粒子からなっている。そのため、その表面積が大きく、酵素と接触し易い状態になっており、しかもその水不溶性繊維質中のセルロースとヘミセルロースの結合が部分的に崩壊しており、小麦フ

6

スマのように強固ではない。その上、小麦粉から小麦澱粉やグルテンを採取する際に、混練、水洗などの工程を経るため、十分に水和されており、細胞壁分解酵素が水不溶性繊維質の細胞壁中に浸透し易い状態になっている。その結果、アルカリによるヘミセルロースの抽出処理や加熱加圧処理等の前処理を施さなくても、小麦粉由来の水不溶性繊維質に直接細胞壁分解酵素を作用させるだけで、加水分解が円滑に行われて、目的とするオリゴ糖が得られるものと考えられる。

10 【0025】そして、上記で本発明で製造されたオリゴ糖は、アラビノキシロオリゴ糖から主としてなっているため、バクテロイデス・フラギリス菌、バクテロイデス・ブルガタス菌、大腸菌などの有害菌の増殖促進作用を持たず、有用菌であるビフィズス菌を選択的に増殖させることができ、機能性食品やその他の用途に有用に使用することができる。

【0026】

【実施例】以下に本発明を実施例等により具体的に説明するが、本発明はそれにより限定されない。以下の例中の%はすべて重量による。また、以下の例中、全糖量

20 は、フェノール硫酸法によって求めた。更に、得られた生成物中のオリゴ糖の含有量および糖組成は下記の方法により測定した。

【0027】〔オリゴ糖含有量の測定〕下記の例で得られた生成物50mgを純水1mlに溶かした後、下記の条件下でHPLC分析を行い、そのクロマトグラムを求め、クロマトグラムの各ピークの面積比からオリゴ糖の含有量を求めた。

HPLC分析条件：

注入量：20 μl

カラム：Ultrasphere 250×2（ウォータース社製）

流速：0.8 ml/分

温度：70℃

検出装置：示差屈折計

【0028】〔糖組成の測定〕下記の各例で得られた生成物20mgに2規定のトリフルオロ酢酸2mlを加え、100℃で2時間加水分解した後、酸を除いて、上記の条件下にHPLC分析を行って糖組成を求めた。

【0029】《参考例1》〔小麦粉由来の水不溶性繊維質の回収〕

40 上記した特開平2-418026号に準じて以下の方法で水不溶性繊維質を小麦粉から回収した。すなわち、小麦粉（蛋白含量16.0%）10部に対して水6部を加え、ニーダー混練機を使用して約20℃の温度で20分間混練して生地を製造した。次に、この生地16部に対して水を60部加えて水温約20℃で水洗装置（一軸型スクリュウコンベア）を使用して60分間水洗を行った。この水洗工程の結果、生地中の小麦グルテンは水不溶固形物として分離してくるので、グルテン固形物を除き、澱粉含有乳濁液からなる水相を回収した。次いで上

(5) 特開平5-317075

8

記で回収した澱粉含有乳濁液を300メッシュの振動篩を使用して処理し澱粉を分離し、篩の上に残留するペースト状残留物（水分含量約95%）を回収した。

【0030】次に、上記工程で回収したペースト状残留物に対して更に2倍の水を加えて固形分濃度が約2%の水希釈乳濁液を調製した。更に、連続式遠心分離装置

【シャーププレス・スーパー・デカンター P-660 型；巴工業（株）社製】を使用して、水希釈乳濁液の供給量2000kg/h、回転筒の回転速度5000rpm（2130G）、コンベヤの回転速度3000rpm

で遠心分離処理すると、赤柏に相当する着色した水不溶性繊維質が上流側の排出口から排出され、一方下流側の排出口から白柏に相当する水不溶性繊維質を含む白色乳*

* 濁液が1900kg/hの割合で回収された。上記で回収された着色した水不溶性繊維質と白色乳濁液の各々を乾燥して、いわゆる赤柏と白柏の各々を得た。上記で得た赤柏および白柏の一般分析値および中性糖組成は、下記の表1に示すとおりであった。

【0031】《参考例 2》小麦粉の種類を変えて上記の参考例1と同様の方法により、赤柏と白柏とを調製し、その一般分析値および糖組成を調べたところ、下記の表1に示すとおりであった。更に参考のため、小麦フスマの一般分析値と中性糖組成を表1に併記する。

【0032】

【表1】

	一般分析値			糖組成		
	水分 (%)	灰分 (%)	蛋白質 (%)	Gl ^a (%)	Xyl ^a (%)	Ara ^a (%)
参考例1						
赤 柏	10.0	1.5	7.2	20.0	48.3	31.5
白 柏	10.0	0.6	6.0	65.2	20.2	14.6
参考例2						
赤 柏	4.1	1.2	6.9	51.0	30.9	48.2
白 柏	4.5	0.7	4.3	63.4	23.1	13.5
小麦フスマ	12.6	5.1	16.4	32.1	42.9	25.0

1) グルコース、 2) キシロース、 3) アラビノース

【0033】上記の表1から、小麦粉由来の水不溶性繊維質である赤柏および白柏は、小麦フスマに比べて、灰分および蛋白質といったオリゴ糖の調製にとっては不純物になる物質の含有割合が少なく、オリゴ糖の製造用原料として好ましいことがわかる。また、グルコースは主に小麦澱粉に由来するものと考えられる。更に、参考例1と参考例2によるものとは、赤柏中におけるグルコース、キシロースおよびアラビノースの割合がかなり異なっているが、これは赤柏調製時の澱粉との分離の程度に原因するものと思われる。グルコースは、アラビノキシロオリゴ糖を主成分とするオリゴ糖の製造時には不純物となるので、赤柏等の水不溶性繊維質の製造時に出来る限り分離するのが好ましい。そして、本発明者らによる上記の特開平2-418026号の方法によって赤柏を調製した場合には、赤柏中に含まれるグルコースの割合が少なく、その赤柏は本発明における水不溶性繊維質として適している。

【0034】《実施例 1》参考例1で調製した赤柏5gをpH5.5で50mMの酢酸緩衝液に懸濁させて、赤柏の5%（w/v）懸濁液100mlを調製した。これを50℃に加熱した後、セルラーゼオノズカRS（ヤクルト本社製）を5mg（キシラナーゼとして42unit/s）を加えて30分間加水分解反応を行った。次いで、

100℃で10分間煮沸させて酵素を失活させた。放冷後、9000Gで30分間遠心分離して、得られた上澄液を孔径0.45μmのマイクロフィルターで濾過し、濾液を凍結乾燥して固形物を得た。ここで得られた固形物の収率（%）、全糖量、オリゴ糖含有量および糖組成を上記した方法により測定した。その結果を、下記の表2に示す。

【0035】《実施例 2》参考例1で調製した白柏を使用した以外は実施例1と同様にしてオリゴ糖の製造を行った。その結果を表2に示す。

【0036】《実施例 3》参考例1で調製した赤柏5gをpH5.5で50mMの酢酸緩衝液に懸濁させて、赤柏の5%（w/v）懸濁液100mlを調製した。これを60℃に加熱し、ターミナル120L（NOVO社製）を70μl（アミラーゼとして10KNU）を加えて1時間反応を行った後、9000Gで30分間遠心分離して上澄液を除いた。新たにpH5.5で50mMの酢酸緩衝液を加えて100mlに定容した後、50℃に加熱して、セルラーゼオノズカRSを5mg（キシラナーゼとして42unit/s）を加えて30分間加水分解反応を行った。次いで、100℃で10分間煮沸させて酵素を失活させた。放冷後、9000Gで30分間遠心分離して、得られた上澄液を孔径0.45μmのマイクロフィ

(6)

特開平5-317075

9

10

ルターで濾過し、濾液を凍結乾燥して固形物を得た。ここで得られた固形物の収率(%)、全糖量、オリゴ糖含有量および糖組成を上記した方法により測定した。その結果を、下記の表2に示す。

【0037】《実施例 4》参考例1で調製した赤拍1.5kgをpH5.5で50mMの酢酸緩衝液に懸濁させて、赤拍の10%(w/v)懸濁液15リットルを調製した。これを発酵装置MBU-50(東京理化学機社製)に入れて60℃に加熱した。これに、ターミル120Lを21ml(アミラーゼとして3000KN U)を加えて1時間反応を行った後、遠心濾布(株)田辺鉄工所製を用いて反応液を除いた。残渣を再び発酵装置MBU-50に入れて、新たにpH5.5で50mMの酢酸緩衝液を加えて15リットルに定容した。その後、50℃に加熱して、セルラーゼオノズカRSを1.5g(キシナーゼとして12450units)を加えて30分間加水分解反応を行った。次いで、100℃で10分間煮沸させて酵素を失活させた。放冷後、遠心濾布で濾液を調製した後、この濾液に濾過助剤(昭和化学工業社製;ラジオライト2000)を1%(w/v)加えて、孔径5μmのフィルターで吸引濾過した。得られた濾液をスプレードライヤーで噴霧乾燥して乾燥物を得た。ここで得られた乾燥物の収率(%)、全糖量、オリゴ糖含有量および糖組成を上記した方法により測定した。その結果を、下記の表2に示す。

【0038】ところで、この実施例4で得られた乾燥物を上記したHPLC分析にかけた時のクロマトグラムは、図1に示すとおりであった。一方、分子重量既知の物質を用いて同様にしてHPLC分析したところ、分子重量が800のプルランの場合は19.20分の位置に、分子重量が180のグルコースでは27.69分の位置に、更に分子重量が150のキシロースとアラビノースでは28.55分の位置にそれぞれピークが出現した。このことから、図1のクロマトグラムにおいて、グルコー*

スにはば相当するピーク4(分子重量180)よりも左側にあるより分子重量の大きいピーク1~3がオリゴ糖に相当し、オリゴ糖の生成が確認された。

【0039】《比較例 1》水洗した小麦フスマの凍結乾燥物50gをpH5.5で50mMの酢酸緩衝液に懸濁させて小麦フスマの5%(w/v)懸濁液1リットルを調製した。これを50℃に加熱した後、セルラーゼオノズカRSを50mg(キシナーゼとして420units)を加えて30分間加水分解反応を行った。次いで、100℃で10分間煮沸させて酵素を失活させた。放冷後、9000Gで30分間遠心分離して、得られた上澄液にラジオライト2000を1%(w/v)の割合で加えて孔径5μmのフィルターで濾過し、濾液を凍結乾燥して固形物を得た。ここで得られた固形物の収率(%)、全糖量、オリゴ糖含有量および糖組成を上記した方法により測定した。その結果を、下記の表2に示す。

20

【0040】《比較例 2》水洗した小麦フスマの凍結乾燥物50gをpH5.5で50mMの酢酸緩衝液に懸濁させて小麦フスマの5%(w/v)懸濁液1リットルを調製した。これをオートクレーブにて120℃、2.1気圧で10分間加熱処理した。放冷後、50℃に加熱してセルラーゼオノズカRSを50mg(キシナーゼとして420units)を加えて30分間加水分解反応を行った。次いで、100℃で10分間煮沸させて酵素を失活させた。放冷後、9000Gで30分間遠心分離して、得られた上澄液にラジオライト2000を1%(w/v)の割合で加えて孔径5μmのフィルターで濾過し、濾液を凍結乾燥して固形物を得た。ここで得られた固形物の収率(%)、全糖量、オリゴ糖含有量および糖組成を上記した方法により測定した。その結果を、下記の表2に示す。

【0041】

【表2】

	実 施 例				比較例	
	1	2	3	4	1	2
固形物収率(%)	40.1	32.5	30.4	28.8	3.6	23.7
全糖量(%)	88.7	86.3	88.1	90.0	-	85.8
オリゴ糖含有量	16.4	11.8	16.3	15.1	-	12.1
糖組成						
Glc ¹ (%)	43.1	47.8	25.0	28.2	-	25.7
Xyl ¹ (%)	38.7	33.3	51.9	48.7	-	57.2
Ara ¹ (%)	18.2	18.9	23.1	23.1	-	17.1
合計(%)	100.0	100.0	100.0	100.0	-	100.0

1) グルコース、 2) キシロース、 3) アラビノース

【0042】上記表2の結果から、本発明の実施例1~4では予備処理を行わずに小麦粉由来の水不溶性繊維質

を細胞壁分解酵素で直接加水分解処理しているだけであり、にも拘わらず、繊維質の加圧加熱等の予備処理を行っ

50

(7)

特開平5-317075

11

12

ている比較例1～2に比べて、アラビノースおよびキシロースを多く含むオリゴ糖を高い収率で得ることができるとわかる。しかも小麦粉由来の水不溶性繊維質として赤粕を使用した場合には、グルコース含量が少なく、アラビノースおよびキシロース含量の多い、ビフィズス菌の増殖促進により有効なオリゴ糖が得られることがわかる。

【0043】

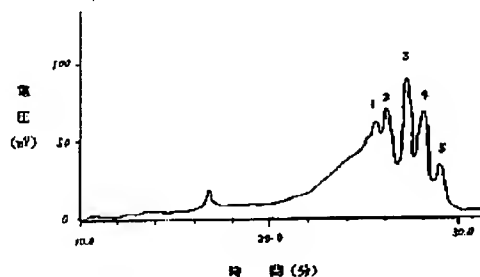
【発明の効果】本発明の方法により、有害菌の増殖促進作用を示さず、有用菌であるビフィズス菌増殖促進作用を有するアラビノースとキシロースを多量に含むオリゴ糖

*糖。特にアラビノキシロオリゴ糖を、アルカリ抽出や加圧加熱処理などの複雑な前処理工程を経ることなく、簡単な操作で且つ高収率で製造することができる。更に、本発明によるときは、これまで取り扱いが苦慮されてきた小麦粉廃液中の水不溶性繊維質、そのうちでも特に赤粕として回収される繊維質を有効利用することができ、従来ほとんど有効な用途のなかった小麦粉由来の水不溶性繊維質を有用なオリゴ糖に変えることができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】実施例4で得られた生成物のHPLC分析による各フラクションのクロマトグラムを示す図である。

【図1】



【手続補正言】

【提出日】平成4年7月1日

【手続補正1】

【補正対象会類名】明細書

【補正対象項目名】0032

※【補正方法】変更

【補正内容】

【0032】

※【表1】

	一般分析値			糖組成		
	水分 (%)	灰分 (%)	蛋白質 (%)	Gl ¹⁾ (%)	Xyl ¹⁾ (%)	Ara ¹⁾ (%)
参考例1						
赤 粕	10.0	1.5	7.2	20.2	48.3	31.5
白 粕	10.0	0.6	6.0	65.2	20.2	14.6
参考例2						
赤 粕	4.1	1.2	6.9	51.0	30.9	18.1
白 粕	4.5	0.7	4.3	63.4	23.1	13.5
小麦ワスマ	12.6	5.1	16.4	32.1	42.9	25.0

1) グルコース、 2) キシロース、 3) アラビノース